

**Serologische
und fluoreszenzoptische Untersuchungen
an tumortragenden Ratten**

Transplantation von Walker-Tumoren

von

**Ursula Klobe
aus Nürnberg**

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533917_0068

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth

**Serologische
und fluoreszenzoptische Untersuchungen
an tumortragenden Ratten**
Transplantation von Walker-Tumoren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ursula Klobe
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr.med. E. WETTERER

Referent: Prof. Dr.med. F. SCHEIFFARTH

Tag der mündlichen Prüfung: 25. September 1967

Inhalt

A) Einleitung

B) Tiermaterial, Versuchsanordnung und Methodik

I. Tiermaterial

II. Versuchsanordnung

III. Methodik

1. Aufbereitung des Tumormaterials und Transplantationsmodus
2. Herstellung der Antiseren
 - a) Anti-DNS-Serum
 - b) Anti-Tumor-Serum
3. Papierelektrophorese
4. Immunoelktrophorese
5. Hämagglutination nach BOYDEN
6. Präzipitationstechnik nach OUCHTERLONY
7. Fluoreszenzserologische Untersuchungen

C) Ergebnisse

I. Charakterisierung des Tumors

II. Befunde bei der Gewinnung der Antiseren

1. Sensibilisierung mit DNS
2. Sensibilisierung mit Tumorextrakt

III. Beobachtungen an den Versuchstieren des Hauptversuches nach Tumortransplantation

IV. Papierelektrophoretische Befunde der Tiere des Hauptversuches

V. Ergebnisse der Immunoelktrophorese

VI. Ergebnisse der Hämagglutination

VII. Ergebnisse der Präzipitationsreaktionen im Agargel

VIII. Ergebnisse der fluoreszenzserologischen Untersuchungen

D) Diskussion

E) Zusammenfassung

F) Literaturverzeichnis

Einleitung

Zum Problem der Tumorantigenität bzw. der Frage nach wirksamen, d.h. wachstumshemmenden spezifischen Antikörpern gegen malignes Gewebe in einem tumortragenden Organismus wurde in verschiedenen Versuchsreihen an Ratten mit transplantablen Yoshida-Tumoren (56) gezeigt, daß zwar das Tumorstadium durch verschiedene Maßnahmen im Sinne einer Hemmung beeinflußt werden kann, daß es aber sehr fraglich erscheint, ob die vermeintlich immunologisch bedingten Phänomene tatsächlich als spezifische, gewebliche Tumor-Antitumor-Reaktionen zu deuten sind.

Da sich in der einschlägigen umfangreichen Literatur über Tumorummunologie, in Abhängigkeit von der Art des Tumors, der tumortragenden Spezies, der Versuchsanordnung und der verwendeten Antikörpernachweismethoden außerordentlich unterschiedliche, ja sogar widerspruchsvolle Resultate gezeigt haben (1,2,4,5,6,7,8,9,11,12,15,17,18,19,21,22, 27,28,30,32,35,36,37,38,39,41,42,43,44,45,47,48,49,50,59, 61,62,63,65,67,68), sollte im folgenden in einer weiteren tierexperimentellen Versuchsreihe an Ratten unter Verwendung eines transplantablen Walker-Carcinoms unter nur geringfügiger Abweichung der Versuchsanordnung die immuno-

logische Reaktionsfähigkeit des Trägerorganismus gegen diesen Tumor geprüft werden. Die Untersuchungen sollen einen Beitrag liefern zu dem Problem der Tumorummunologie, d.h. zur Frage der Immunisierbarkeit eines tumortragenden Individuums mit spezifischen Proteinen des maligne entarteten Eiweißsystems.

Tiermaterial, Versuchsanordnung und Methodik

I. Tiermaterial

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden an 25 weißen Wistar-Ratten⁺⁾ vorgenommen. Die Tiere wurden für die verschiedenen einzelnen Fragestellungen in drei Gruppen aufgeteilt zu je 5 bzw. 15 Ratten.

II. Versuchsanordnung

Eine erste Gruppe von 5 Ratten wurde als Trägartiere für Tumortransplantate ohne weitere Behandlung vorgesehen.

Einer zweiten Gruppe von 5 Tieren wurde zunächst ein Anti-DNS-Serum vom Kaninchen (siehe unten) nach folgendem Modus i.p. appliziert:

6 Injektionen jeden zweiten Tag mit 0,5 ml des Antiserums pro Tier und Injektion. Die Transplantation lebender Tumorzellen erfolgte am Tag der zweiten Antiseruminjektion d.h. am dritten Tag nach Versuchsbeginn.

Eine dritte Gruppe von 15 Ratten wurde mit einem spezi-

⁺⁾ Wistar-Inzuchtratten, Hannover

fischen Antitumorserum vom Kaninchen (siehe unten) vorbehandelt und anschließend mit Tumorzellen beschickt. Hierbei wurden zwei verschiedene Modi der Behandlung mit dem spezifischen Antiserum gewählt: 10 Tiere erhielten pro Tier und Injektion 0,5 ml des spezifischen Antiserums zweimal unter Auslassung eines behandlungsfreien Tages i.p. appliziert. Unmittelbar danach wurde der Tumor transplantiert, die Antiserumapplikation im gleichen Abstand noch dreimal vorgenommen und dann abgesetzt. 5 Tieren wurde schließlich über einen Zeitraum von 20 Beobachtungstagen insgesamt zehnmal pro Tier und Injektion 0,5 ml des spezifischen Antiserums i.p. appliziert. Die Übertragung des Tumors erfolgte nach der 4. Injektion. (Abb.1)

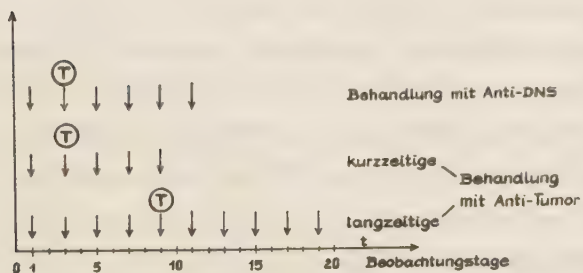


Abb.1: Sensibilisierungsschema

Vor Versuchsbeginn wurde sämtlichen Tieren Blut entnommen, das Serum papierelektrophoretisch, immunoelektrophoretisch, außerdem auf unspezifische Agglutinations- bzw. Präzipitationsreaktionen gegen Tumor geprüft. Bei den folgenden Kontrollen wurden die gleichen Analysen vorgenommen. Außerdem wurden am Ende der Beobachtungszeit fluoreszenzoptische Untersuchungen an Schnitten der transplantierten Tumoren mit einem gepoolten, fluoreszierten Serum der im Versuch gestandenen Ratten sowie mit fluoresziiertem Anti-Tumorse-
rum vom Kaninchen angestellt.

III. Methodik

Aufbereitung des Tumormaterials und Transplantationsmodus

Tumorgewebe wurde einem tumortragenden Tier nach Tötung im Chloroformrausch operativ entfernt, sorgfältig von peritumoralem Gewebe und Bindegewebe abpräpariert, kurzfristig in Aqua dest. gewässert und sodann durch die Embryonenpresse getrieben. Das so gewonnene Zellsubstrat wurde im Verhältnis 1:4 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Diese Tumorzellsuspension wurde nun unter Wahrung steriler Kautelen subcutan in die Flankengegend injiziert.

Herstellung der Antiseren

a) Anti-DNS-Serum

Drei Kaninchen wurden mit folgender Lösung sensibilisiert:

Aufbereitung der DNS-Lösung:

0,4 g DNS in 25 ml NaCl + 14 ml 1/n-NaOH lösen.

Der Sensibilisierungsmodus bestand in einer ersten Injektion einer Mischung aus 2 ml obiger Lösung und 4 ml FREUNDschem Adjuvant sowie in einer subcutanen Injektionsserie von 5 aufeinanderfolgenden Injektionen mit je 0,5 ml der DNS-Suspension pro Tier und Injektion. Nach einem Intervall von 21 Tagen seit der Erstinjektion wurden jeden zweiten Tag, insgesamt siebenmal, jeweils 2,0 ml der DNS-Lösung pro Tier und Injektion appliziert. Schließlich wurde nach 5 Wochen seit Sensibilisierungsbeginn den Kaninchen in größeren Mengen Blut abgenommen. Nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde das überstehende Serum abpipettiert, zentrifugiert (20 min bei 3000 U/min) und das klare Anti-DNS-Serum vom Kaninchen in kleinen Portionen abgefüllt und in der Tiefkühltruhe^{+) bei minus 20°C eingefroren.}

Während der Sensibilisierung wurden mehrfach Agglutinations- und Präzipitationsreaktionen des Kaninchen-serums gegen die verwendete Antigenlösung vorgenommen, wobei aus deren Ergebnissen der weitere Injektionsmodus abgeleitet wurde.

^{+) BBC-Tiefkühltruhe}

b) Herstellung der Anti-Tumor-Seren

Aufbereitung der Antigenlösung (Tumorhomogenat):

Der kurzfristig gewässerte Tumor, der wie oben präpariert worden war, wurde grob zerkleinert und nach Zusatz von vier Teilen physiologischer Kochsalzlösung mit dem Ultra-Turrax-Gerät⁺ (1500 U/min) homogenisiert. Der so gewonnene Extrakt wurde als Antigensuspension verwendet.

Es wurden zwei Kaninchen mit dem Homogenat des Tumorgewebes in folgender Weise behandelt:

Eine erste Injektion erfolgte mit je 4 ml des Tumorumogenats intramuskulär. Eine zweite folgte im Abstand von sechs Tagen in gleicher Weise und fortan noch viermal im gleichen Intervall und in adäquater Menge.

Eine erste Kontrolle erfolgte acht Tage nach Erstinjektion. Weitere folgten in Abständen von je einer Woche. Auf Grund der positiven Ergebnisse (ausreichender Antikörpernachweis) wurden größere Mengen Blutes erstmalig für die Antiserumdarstellung (siehe oben) nach 14 Tagen seit Sensibilisierungsbeginn entnommen. Darüber hinaus wurden jeweils 3, 4, 5 und 6 Wochen nach Behandlungsbeginn ebenfalls größere Blutentnahmen zur Antiserumgewinnung vorgenommen.

⁺) Jahnke und Kunkel AG, Fabrik chem.physikal. Apparate, Staufen i.Br.

Papierelektrophorese

Die Papierelektrophorese wurde in üblicher Weise nach den Angaben von GRASSMANN und HANNIG (31,34,54) vorgenommen. Die technischen Einzelheiten, die inzwischen zu einer Routinemethode geführt haben, mögen dem einschlägigen Schrifttum entnommen werden.

Immunoelktrophoresen

Es wurde im Prinzip nach dem Verfahren von GRABAR und WILLIAMS (26,29) bzw. in der abgewandelten Mikromethode nach SCHEIDEGGER (53) vorgegangen. Untersucht werden im einzelnen die Rattenserumseren der verschiedenen Gruppen unter Verwendung eines spezifischen Antiserums⁺). Außerdem wurde der Tumorextrakt gegen sein spezifisches Antiserum sowie gegen die Seren tumortragender Ratten immunoelktrophoretisch analysiert.

Hämagglutinationstechnik nach BOYDEN (10)

Es wurde die Originaltechnik in geringfügiger Abwandlung (55) verwendet. Die Methode wurde eingesetzt zum Nachweis agglutinierender Antikörper gegen Tumorextrakt in den verschiedenen Rattenserumseren; sie wurde außerdem in den Kaninchenversuchen bei der Gewinnung der spezifischen Antiserumseren vorgenommen. Schließlich wurden mit ihr auch Rattenserumseren auf agglutinierende Antikörper gegen Kaninchen-serum (Anti-Tumor-Serum!) geprüft.

⁺) Plasmaprotein-Antiserum (Anti-Ratte-Serum vom Kaninchen; Op-Nr. 641 Q), Behringwerke, Marburg/Lahn

Zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel

Hier wurde prinzipiell nach den Angaben von OUCHTERLONY (46) vorgegangen. Mit dieser Technik wurden sämtliche Tierseren auf Präzipitine, je nach Fragestellung (siehe Versuchsanordnung) analysiert.

Fluoreszenzserologische Untersuchungen

Die fluoreszenzserologischen Untersuchungen wurden nach einer Modifikation des von COONS angegebenen Verfahrens (13,14,43) vorgenommen. Zur Markierung der γ -Globuline, die aus den bei der letzten Blutentnahme gewonnenen Seren mittels Ammoniumsulfatfällung abgetrennt wurden, wurde Fluoresceinisothiocyanat in einer Dosierung von 0,01 mg/mg Eiweiß verwendet. Die Reinigung der markierten Seren erfolgte durch Dialysierung gegen gepufferte, physiologische Kochsalzlösung sowie durch Trennung der Seren an der DEAE-Cellulosesäule mittels eines Kochsalzgradienten (23).

Von den eingefrorenen Tumorstücken wurden Gefrierschnitte im Kryostaten hergestellt und diese vor der Inkubierung mit den markierten autologen Seren (30 min bei 37°C im Brutschrank) in Methanol fixiert und anschließend 30 min gewässert. Die Auswertung der Präparate erfolgte mit einem Fluoreszenzmikroskop. Im einzelnen wurde die Fluoreszenz der Tumorzellen differenziert nach Cytoplasma und Zellkern.

In Kontrollversuchen wurden ungefärbte Präparate auf Spontanfluoreszenz untersucht.

Ergebnisse

Charakterisierung des Tumors

Der zur Transplantation verwendete Tumor erwies sich histologisch als wenig differenziertes Carcinom^{+) (Abb.2).}

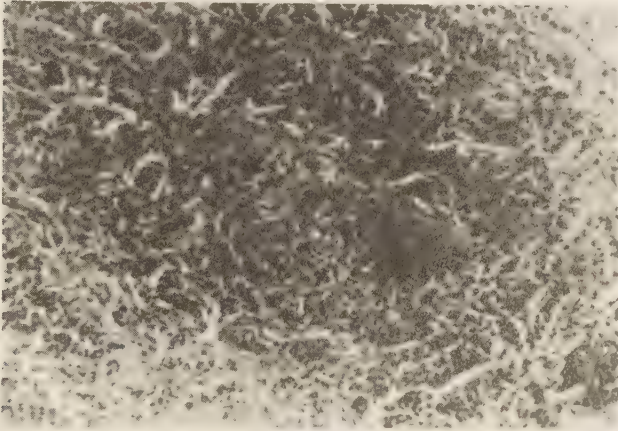


Abb.2: Histologisches Bild des Tumors

Bei agarelektrophoretischer Trennung und Färbung mit Amidoschwarz 10B wurden zunächst 6 Eiweißkomponenten differenziert, unter welchen drei breite komplexe imponieren, die möglicherweise je in zwei Fraktionen unterteilt werden können, so daß die Zahl der Tumorproteine bei einfacher Agarelektrophorese mit 9 angegeben werden kann (Abb.3a).

^{+) Die Beurteilung des histologischen Präparates verdanken wir Herrn Prof.Dr. K. Elster (Pathologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg; Direktor: Prof.Dr. E. Müller).}

Die papierelektrophoretischen Ergebnisse waren mit dem gleichen Extrakt, d.h. derselben Konzentration des Tumormorhomogenats, unter Berücksichtigung des unterschiedlichen Trägermediums, im Prinzip dem agarelektrophoretischen Ergebnis gleich (Abb.3b).

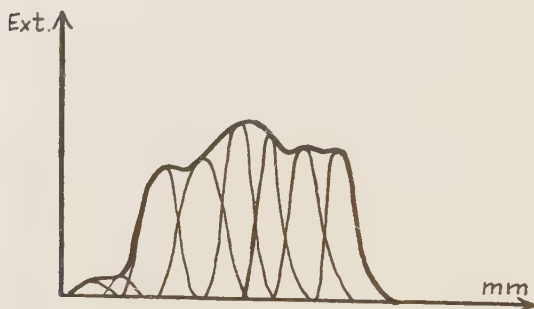


Abb.3a: Agarelektrophoretische Auftrennung der Tumorproteine

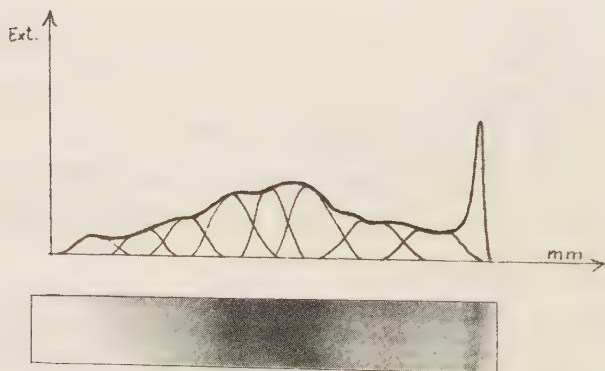


Abb.3b: Papierelektrophoretische Auftrennung der Tumorproteine

Befunde bei Gewinnung der Antiseren

a) Sensibilisierung mit DNS

Die Kaninchen, welche in der oben angegebenen Weise mit DNS behandelt wurden, zeigten papierelektrophoretisch bereits nach 26 Tagen eine deutliche Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und relativem Anstieg vor allem der α_1 - Globuline. Hier fiel eine Zwischenfraktion zwischen dem Albumin und der α_1 - Komponente auf (Abb.4).

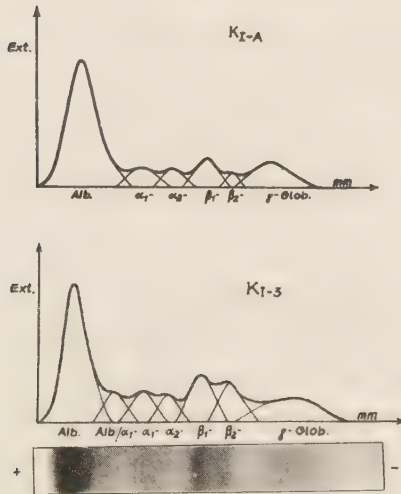


Abb.4: Papierelektrophoretische Auftrennung des Serums eines mit DNS sensibilisierten Kaninchens.
oben: Ausgangswert
unten: Kontrolle mit Auftreten einer Zwischenfraktion

In den weiteren Kontrollen kam es zu einer Vertiefung dieser Dysproteinämie mit stärkerem prozentualen Anteil der γ -Globulin-Zunahme, die bei letzter Kontrolle, d.h. nach 9 Wochen ihren Höhepunkt erreicht hatte. Bei dieser letzten Kontrolle zeigte sich bereits wieder eine Stabilisierung des Albumins bzw. ein geringer relativer Anstieg der feindispersen Phase (Tabelle 1; Abb.5). Ab zweiter Kontrolle konnten bei allen Tieren einwandfrei positive Agglutinationsreaktionen gegen das Antigen (Titer 1:1024) nachgewiesen werden; im OUCHTERLONYtest fielen sogenannte Hemmzonen der diffundierenden Reaktionspartner auf. Ausgesprochene Präzipitate konnten jedoch nicht nachgewiesen werden. In den weiteren Kontrollen sanken die Agglutinationstiter auf Werte von 1:32 bzw. 1:64 und darunter. Die OUCHTERLONYphänomene blieben bis zum Ende dieser Vorversuche nachweisbar.

b) Sensibilisierung mit Tumorextrakt

Unter der Behandlung mit Tumorextrakt kam es zu einer tiefgreifenden Dysproteinämie, die bereits bei erster Kontrolle im Sinne einer Hypalbuminämie und einer starken Zunahme der α_1 - und β_1 -Fraktionen deutlich wurden. Im Verlaufe der weiteren Kontrollen sanken die Albumine weiterhin kontinuierlich, jedoch nur mäßig ab, während unter den Globulinen nunmehr neben den α - und β -Globulinen auch die γ -Globuline deutlich anstiegen (Tabelle 2 und Abb.6).

Papierelektrophoresen

Mit DNS sensibilisierte Kaninchen

Relative Prozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Al/ α_1	Globuline				Agglutination	Präzipitation
				α_1	α_2	β_1	β_2	γ	
1	A : 4.11.65	60,81		7,77	4,73	7,09	6,42	13,17	$\emptyset$
	K1:30.11.65	40,57	7,12	7,83	4,98	12,81	9,96	16,72	$\emptyset$
	K2:11.12.65	37,29	7,38	5,74	5,74	15,16	8,20	20,49	1:1024
	K3:19.12.65	41,01	4,61	6,91	5,53	12,44	8,29	21,20	1:64
	K4:10. 1.66	45,39	5,67	6,38	4,25	9,57	4,96	23,76	1:16
2	A : 4.11.65	57,65		9,61	5,69	8,18	3,56	15,30	$\emptyset$
	K1:30.11.65	41,51	6,60	8,02	6,60	15,57	6,60	15,09	$\emptyset$
	K2:11.12.65	39,44	5,99	10,56	7,04	10,91	8,80	17,25	1:1024
	K3:19.12.65	33,16	8,81	9,84	9,33	12,95	4,66	21,24	1:32
	K4:10. 1.66	40,79	6,14	6,86	6,50	8,30	4,69	26,71	1:16
3	A : 4.11.65	61,15		8,08	5,00	6,54	5,00	14,23	$\emptyset$
	K1:30.11.65	44,18	6,02	9,64	5,62	8,83	4,82	20,88	$\emptyset$
	K2:11.12.65	37,54	10,15	7,69	7,08	13,54	5,85	18,15	1:1024
	K3:19.12.65	37,80	6,50	7,72	5,60	10,57	6,50	25,20	1:64
	K4:10. 1.66	44,33	4,33	6,33	5,33	9,00	4,00	26,67	1:16

Tabelle 1

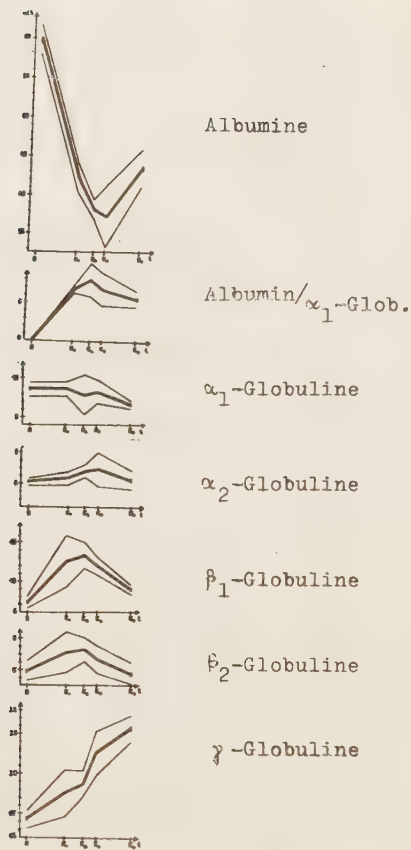


Abb. 5: Kurvenverlauf der Papierelektrophorese-
befunde der Seren mit DNS sensibilisierter
Kaninchen.

Papiererelektrophoresen

Mit Tumorextrakt sensibilisierte Kaninchen

Relative Prozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				Agglutination	Präzipitation
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ	
1	A : 10.12.65	64,43	4,70	4,70	10,07	0,00	16,01	Ø
	K ₁ : 16.12.65	45,75	14,17	9,31	12,95	6,48	11,34	1: 256
	K ₂ : 27.12.65	37,23	9,09	8,66	13,85	7,79	23,38	1: 256
	K ₃ : 3. 1.66	43,32	10,93	10,53	12,95	6,88	15,38	1: 64
	K ₄ : 10. 1.66	46,72	10,04	8,88	11,58	5,40	17,37	1:1024
	K ₅ : 17. 1.66	42,67	14,33	7,32	14,97	6,37	14,33	1:1024
2	A : 10.12.65	61,68	9,58	6,13	8,04	3,45	11,11	Ø
	K ₁ : 16.12.65	40,98	16,54	8,65	14,66	7,14	12,03	1: 256
	K ₂ : 27.12.65	38,63	13,00	8,30	15,88	7,22	16,97	1: 256
	K ₃ : 3. 1.66	46,02	11,42	6,92	15,57	5,54	14,53	1: 256
	K ₄ : 10. 1.66	44,81	12,96	7,78	14,44	4,44	15,56	1: 64
	K ₅ : 17. 1.66	42,67	14,33	7,32	14,97	6,37	14,33	1: 64

Tabelle 2

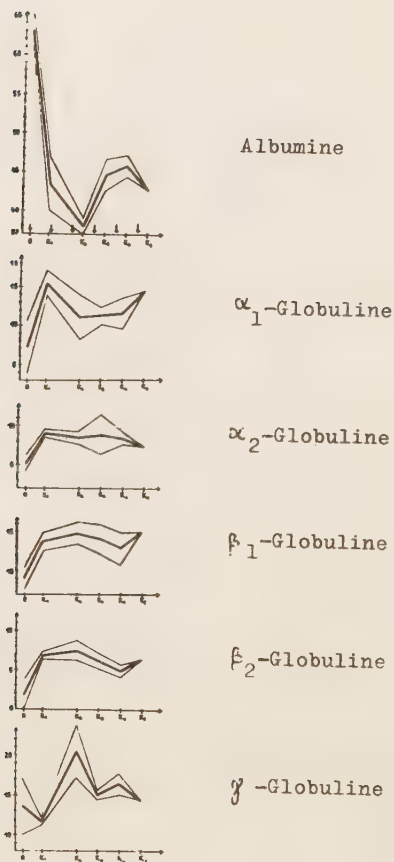


Abb.6: Kurvenverlauf der Papierelektrophoresebefunde der Seren mit Tumorextrakt sensibilisierter Kaninchen.

Die Agglutinationsreaktion des Kaninchenserums gegen den Tumorextrakt erwies sich bereits bei erster Kontrolle mit einem Titer von 1:256 als deutlich positiv. In den weiteren Kontrollen zeigte sich bei drei Blutabnahmen ein Gipfel des Titers mit einem Wert von 1:1024 um gegen das Ende des Versuches allmählich wieder abzufallen (Tabelle 2). Präzipitate zeigten sich ebenfalls bereits bei der ersten Kontrolle. Sie nahmen an Intensität und Zahl im Verlaufe der Beobachtungszeit zu (Abb.7).

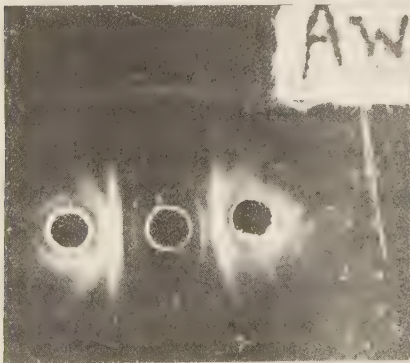


Abb.7: Zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel nach OUCHTERLONY: Kaninchenserum gegen Tumorextrakt.

Beobachtungen an den Versuchstieren des Hauptversuches
nach Tumortransplantation

Trägartiere:

In der Gruppe der primär unvorbehandelten Ratten wurde nach Übertragung der Tumorzellen nach durchschnittlich fünf Tagen ein Angehen des Transplantates, d.h. eine etwa linsen- bis erbsgroße Tumorentwicklung wahrgenommen. Eine Weiterentwicklung dieses in der Flankengegend infiltrierte malignen Tumors erfolgte von nun an zusehends: bereits nach insgesamt acht Tagen, spätestens am zehnten Tage nach Transplantation kam es entweder zu zentralen Ulzerationen oder bereits zum Exitus des tumortragenden Tieres.

Bei den mit Anti-DNS-Serum vom Kaninchen vor- bzw. gleichzeitig behandelten und mit Tumorextrakt infiltrierte Ratten ließ sich ebenfalls durchschnittlich am fünften Tag ein Erfolgstumor nachweisen. Die Entwicklung dieses Transplantates erfolgte jedoch augenscheinlich retardiert.

Kirschgroße Tumoren konnten erst nach etwa 12 Tagen beobachtet werden. Bei zwei von den transplantierte Ratten war ein Wachstum des Tumors nicht wahrnehmbar. Zu diesem Zeitpunkt war mit Ausnahme der erwähnte beiden negativ gewordenen Ratten eine Tumorkachexie eingetreten, die in den folgenden Tagen die Agilität und Freßlust der Tiere auffallend beeinträchtigte. Durchschnittlich am 15. Tag nach Transplantation kamen die Ratten dieser Versuchsreihe spontan ad Exitum.

In der Gruppe der mit spezifischem Antitumorserum (vom Kaninchen) vor- bzw. gleichzeitig behandelten und anschließend mit Tumorzellen transplantierten Tiere konnte unter den kurzfristig vorbehandelten Ratten ein Angehen des Tumors durchschnittlich am fünften Tag nach Transplantation beobachtet werden. Die Weiterentwicklung des Carcinoms erfolgte kontinuierlich bis zu einer optimalen Geschwulstbildung am 12. Tag nach Übertragung. Zu diesem Zeitpunkt kam es wiederum entweder zu Ulzerationen oder/und Exitus. Demgegenüber fiel in der Gruppe der fünfmal vorbehandelten und auch nach Transplantation mit Antitumorserum injizierten Ratten eine Verzögerung des Angehens der transplantierten Tumorzellen bis zu durchschnittlich neun Tagen und ein nur geringfügiges Wachstum des Infiltrates auf. Die Tiere kamen dennoch durchschnittlich 12 Tage nach Transplantation, d.h. zumeist 21 Tage nach Versuchsbeginn ad Exitum. Es handelte sich in allen Fällen um einen tödlichen anaphylaktischen Schock.

Papierelektrophoretische Befunde der Tiere des Hauptversuches

Trägartiere

Die papierelektrophoretischen Befunde unbehandelter Albino-ratten entsprechen dem bekannten Proteilmuster dieser Tierespezies: Es imponieren eine relativ stark konzentrierte Albuminfraktion sowie eine Komponente mit der Wanderungsgeschwindigkeit von β -Globulinen. Die α -Fraktionen lassen

sich zumeist in drei Komponenten differenzieren. Das γ -Globulin stellt im allgemeinen eine breitere, insgesamt aber schwach konzentrierte Proteinfraktion dar. Veränderungen am Serumpherogramm der tumortragenden Ratten: Vergleicht man das Serumeiweißbild von Ratten, die mit Walkertumorzellen geimpft wurden, mit ihrem Pherogramm vor Transplantation, so zeigt sich nach einer Beobachtungsdauer von durchschnittlich zehn Tagen eine tiefgreifende Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und auffallender Hypogammaglobulinämie bei relativer Zunahme der α - und β -Globuline. Dies läßt sich sowohl am Verhalten der relativen als auch der Grammprozentage der einzelnen Serumfraktionen aufzeigen. Auf Grund der statistischen Auswertung sind sowohl die Hypalbuminämie als auch das Absinken der γ -Globuline, aber auch die Zunahme der α_1 , α_2 und β -Globuline signifikant (Tabelle 3a,b; 4a,b; Abb.8; Abb.9). Ein Tier zeigte sogar eine Agammaglobulinämie (Abb.10).

Mit Anti-DNS vorbehandelte tumortragende Tiere

Die papierelektrophoretischen Befunde der Tiere dieser Gruppe zeigten insgesamt eine Dysproteinämie mit statistisch gesicherter Hypalbuminämie und relativer Vermehrung der α_2 , α_2/β , β und γ -Globuline. Statistisch gesichert war hier allerdings lediglich der Anstieg der γ -Globuline, obwohl auch die β -Fraktion eine relativ deutliche Zunahme am Ende des Versuches aufwies. In Discrepanz zu dem Verhalten der erwähnten Globulinfraktionen verhielt sich das α_1 -Globulin: Es fiel im Mittel um 2,0

Papierelektrophoresen

Trägartiere

a. Relative Prozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 7.12.65	49,83	12,88	7,80	5,42	14,58	9,49
	E: 15.12.65	44,03	13,58	10,70	8,23	17,28	6,17
2	A: 7.12.65	42,69	13,44	11,86	7,11	13,44	11,46
	E: 17.12.65	33,33	19,44	12,78	8,89	25,56	0,00
3	A: 7.12.65	41,92	13,10	8,30	6,99	20,52	9,17
	E: 19.12.65	30,66	17,92	15,57	7,55	19,81	8,49
4	A: 23.12.65	45,29	11,96	10,14	7,97	18,48	6,16
	E: 5. 1.66	34,27	19,25	14,80	7,51	20,19	4,69
5	A: 5. 1.66	38,74	13,83	11,07	7,90	19,37	9,09
	E: 12. 1.66	30,95	16,27	9,92	9,13	26,58	7,14

b. Grammprozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 7.12.65	3,09	0,80	0,48	0,34	0,90	0,59
	E: 15.12.65	2,29	0,71	0,56	0,43	0,90	0,32
2	A: 7.12.65	2,65	0,83	0,73	0,44	0,83	0,71
	E: 17.12.65	1,73	1,01	0,66	0,46	1,33	0,00
3	A: 7.12.65	2,60	0,81	0,51	0,43	1,27	0,57
	E: 19.12.65	1,59	0,93	0,81	0,39	1,03	0,44
4	A: 23.12.65	2,81	0,74	0,63	0,49	1,14	0,38
	E: 5. 1.66	1,78	1,00	0,77	0,39	1,05	0,24
5	A: 5. 1.66	2,40	0,86	0,69	0,49	1,20	0,56
	E: 12. 1.66	1,61	0,85	0,51	0,47	1,38	0,37

Trägartiere

a. Relative Prozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	43,65	13,04	9,83	7,08	17,28	9,07
	o ₊	3,84	0,71	1,75	1,03	2,81	1,89
	E: M	34,65	17,29	12,55	8,26	21,88	5,29
	o ₊	5,47	2,43	2,48	0,74	4,00	3,27
	t	5,17	4,52	3,44	3,69	3,74	3,19
	3t	15,51	13,56	10,32	11,07	11,22	9,57

b. Grammprozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	2,71	0,81	0,61	0,44	1,07	0,56
	o ₊	0,26	0,04	0,11	0,06	0,19	0,12
	E: M	1,80	0,90	0,66	0,43	1,14	0,27
	o ₊	0,29	0,12	0,13	0,04	0,21	0,10
	t	16,85	1,73	1,61	0,45	2,00	11,25
	3t	50,55	5,19	4,83	1,35	6,00	33,75

Tabelle 4a, 4b

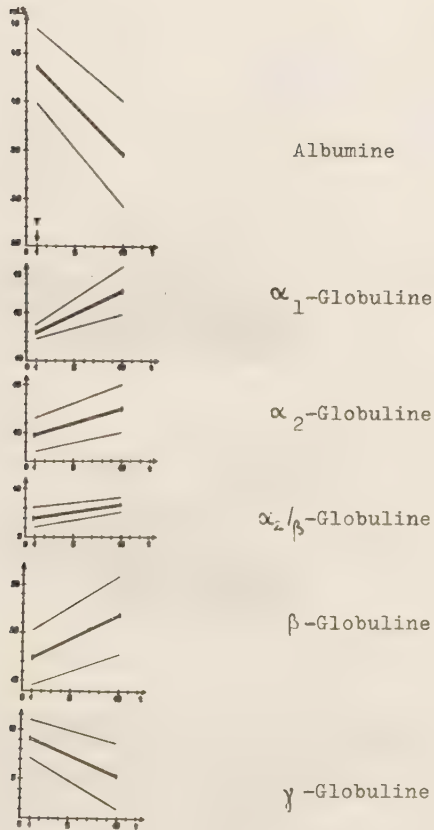


Abb.8: Kurvenverlauf der Papierelektrophoresebefunde der Seren unbehandelter tumortragender Ratten.

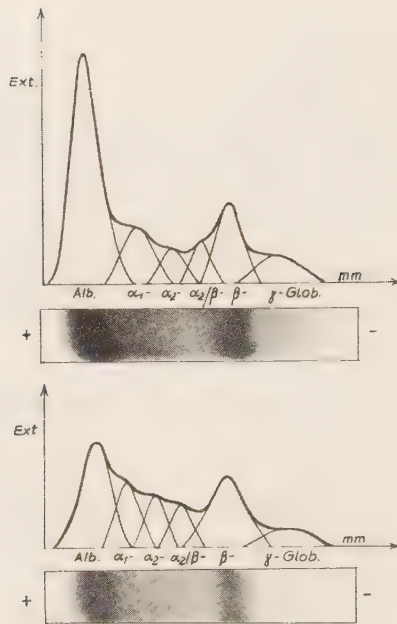


Abb.9: Papierelektrophoretische Trennung des Serums einer tumortragenden Ratte (Elektrophoresestreifen und Diagramm)
oben: Normales Rattenserum
unten: Serum einer tumortragenden Ratte

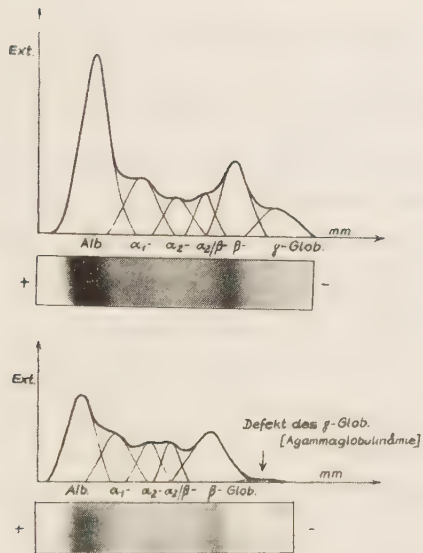


Abb.10: Papierelektrophoretische Trennung des Serums einer unbehandelten tumortragenden Ratte mit Agammaglobulinämie.
oben: Normales Rattenserum
unten: Serum einer tumortragenden Ratte

relative bzw. um 0,1 Grammprozent im Vergleich zum Ausgangswert ab (Tabelle 5a,b; 6a,b; Abb.11; Abb.12).

Mit Antitumorserum vorbehandelte tumortragende Tiere

Die papierelektrophoretisch faßbaren Serumeiweißveränderungen zeigten in beiden Untergruppen dieser Versuchsserie wiederum eine deutliche Dysproteinämie, wobei die Verminderung der Albumine (statistisch gesichert) und eine relative Zunahme nahezu sämtlicher Globulinfraktionen das Serumeiweißbild bestimmte. An der Anreicherung von Globulinen waren insbesondere die α_1 und α_2 -Globuline beteiligt (statistisch gesichert), wie dies vor allem für die Gruppe der kurzfristig mit Anti-Walker-Serum behandelten Ratten zutrifft. In der Gruppe der langfristig behandelten Tiere imponierte mehr die Zunahme der β - und γ -Globuline (Tabelle 7a,b; 8a,b; Abb.13; Tabelle 9a,b; 10a,b; Abb.14; Abb.15).

Ergebnisse der Immunoelektrophorese

Bei immunoelektrophoretischer Analyse eines Serums der unbehandelten Ratte unter Verwendung eines spezifischen Anti-Ratten-Serums lassen sich eine Reihe von Präzipitationslinien nachweisen, die verglichen mit den Präzipitationssystemen eines Humanserums im wesentlichen folgende Komponenten erkennen lassen (vom anodischen Bereich in Richtung Kathode, einschließlich endosmotischer Verziehung):

Eine Präalbuminfraktion, ein Albumin, eine Komponente, die dem α_1 -Lipoproteid des menschlichen Serums vergleich-

Papierelektrophoresen

Mit Anti-DNS behandelte Ratten

a. Relative Prozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	43,53	13,25	10,09	7,25	18,93	6,94
	E: 17.1.66	28,00	13,09	11,64	11,02	22,54	13,45
2	A: 4.1.66	47,37	13,91	6,77	7,14	17,67	7,14
	E: 17.1.66	33,79	10,92	9,90	9,56	20,48	15,36
3	A: 4.1.66	49,38	13,58	9,26	5,86	16,05	5,86
	E: 19.1.66	39,03	10,04	10,78	7,06	19,33	13,75
4	A: 4.1.66	47,21	11,45	8,38	7,54	16,48	8,94
	E: 19.1.66	36,39	9,76	10,06	7,99	18,93	16,86
5	A: 4.1.66	48,26	12,03	7,57	6,62	15,14	10,09
	E: 19.1.66	47,73	7,66	7,32	3,13	14,98	19,16

b. Grammprozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	2,70	0,82	0,62	0,45	1,17	0,43
	E: 17.1.66	1,99	0,93	0,83	0,78	1,60	0,95
2	A: 4.1.66	2,94	0,86	0,42	0,44	1,09	0,44
	E: 17.1.66	2,40	0,77	0,70	0,68	1,45	1,09
3	A: 4.1.66	3,06	0,84	0,57	0,36	0,99	0,36
	E: 19.1.66	2,77	0,71	0,76	0,50	1,37	0,98
4	A: 4.1.66	2,93	0,71	0,52	0,47	1,02	0,55
	E: 19.1.66	2,58	0,69	0,71	0,57	1,34	1,20
5	A: 4.1.66	2,99	0,75	0,47	0,41	0,94	0,62
	E: 19.1.66	3,39	0,54	0,52	0,22	1,06	1,36

Tabelle 5a, 5b

Mit Anti-DNS behandelte Ratten

a. Relative Prozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	47,15	12,84	8,41	6,88	16,85	7,79
	o ₊	2,20	1,05	1,32	0,66	1,47	2,52
	E: M	36,99	10,29	9,94	7,75	19,45	15,71
	o ₊	7,26	1,97	1,84	2,99	2,12	2,36
	t	3,29	3,44	2,68	0,67	3,71	20,31
	3t	9,87	10,32	8,04	2,01	11,13	60,93

b. Grammprozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	2,92	0,80	0,52	0,43	1,04	0,48
	o ₊	0,14	0,06	0,08	0,04	0,09	0,10
	E: M	2,63	0,73	0,70	0,55	1,36	1,12
	o ₊	0,51	0,14	0,11	0,21	0,20	0,17
	t	1,32	1,17	4,44	1,29	4,00	10,67
	3t	3,96	3,51	13,32	3,87	12,00	32,01

Tabelle 6a, 6b

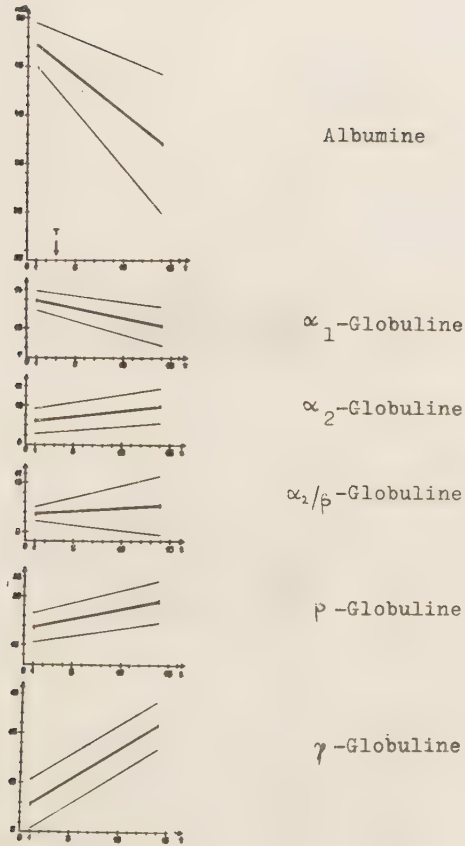


Abb.11: Kurvenverlauf der Papierelektrophoresebefunde der Seren mit Anti-DNS behandelte tumortragender Ratten.

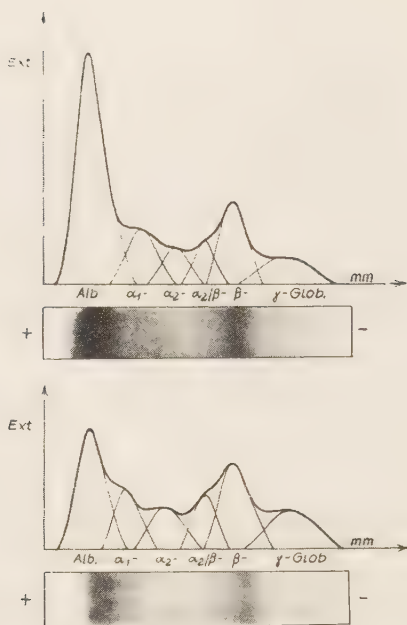


Abb.12: Papierelektrophoretische Trennung des Serums einer mit Anti-DNS behandelten tumortragenden Ratte (Elektrophoresestreifen und Diagramm)
oben: Normales Rattenserum
unten: Serum einer tumortragenden Ratte

Papierelektrophoresen

Mit Anti-Walker behandelte Ratten (Kurzzeitige Behandlung)

ä.Relative Prozent

Tier- Nr.	Datum	Albu- mine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.2.66	48,11	7,56	6,53	4,81	21,65	11,34
	E: 19.2.66	28,35	14,57	12,99	7,48	22,05	14,57
2	A: 4.2.66	57,14	7,33	6,56	3,47	16,22	9,27
	E: 19.2.66	31,33	14,67	15,67	11,67	20,00	6,67
3	A: 4.2.66	53,23	6,46	8,62	6,46	15,69	9,55
	E: 19.2.66	24,41	17,97	15,25	10,85	21,02	10,51
4	A: 4.2.66	56,69	7,75	7,39	3,87	15,49	8,80
	E: 19.2.66	28,01	16,67	15,60	6,03	23,05	10,64
5	A: 4.2.66	54,29	6,44	7,05	5,21	16,87	10,12
	E: 19.2.66	30,64	18,85	13,13	10,44	17,84	9,09
6	A: 4.2.66	54,78	8,28	7,32	5,41	16,24	7,96
	E: 19.2.66	27,67	19,93	12,18	7,38	20,66	12,18
7	A: 4.2.66	53,43	7,35	5,39	6,37	19,12	8,33
	E: 19.2.66	35,21	15,84	13,73	6,69	16,90	11,62
8	A: 4.2.66	55,83	8,83	6,36	4,59	17,67	6,71
	E: 19.2.66	32,20	17,42	9,47	8,33	19,70	12,88
9	A: 4.2.66	50,32	8,23	6,01	5,38	16,14	13,92
	E: 19.2.66	29,06	18,23	17,09	10,83	16,24	8,55
10	A: 4.2.66	53,29	5,99	7,19	5,99	18,56	8,98
	E: 19.2.66	21,72	16,29	15,84	12,22	22,62	11,31

Tabelle 7a

Papierelektrophoresen

Mit Anti-Walker behandelte Ratten (Kurzzeitige Behandlung)

b. Grammprozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.2.66	2,98	0,47	0,40	0,30	1,34	0,70
	E: 19.2.66	1,73	0,89	0,79	0,46	1,34	0,89
2	A: 4.2.66	3,54	0,45	0,41	0,21	1,00	0,57
	E: 19.2.66	1,91	0,89	0,95	0,71	1,22	0,41
3	A: 4.2.66	3,30	0,40	0,53	0,40	0,97	0,58
	E: 19.2.66	1,40	1,10	0,93	0,66	1,28	0,64
4	A: 4.2.66	3,51	0,48	0,46	0,24	0,96	0,54
	E: 19.2.66	1,71	1,02	0,95	0,37	1,41	0,65
5	A: 4.2.66	3,36	0,40	0,44	0,32	1,04	0,63
	E: 19.2.66	1,87	1,15	0,80	0,64	1,09	0,55
6	A: 4.2.66	3,40	0,51	0,45	0,33	1,01	0,49
	E: 19.2.66	1,69	1,21	0,74	0,45	1,26	0,74
7	A: 4.2.66	3,31	0,45	0,33	0,39	1,18	0,52
	E: 19.2.66	2,15	0,97	0,84	0,41	1,03	0,71
8	A: 4.2.66	3,46	0,55	0,39	0,28	1,09	0,42
	E: 19.2.66	1,97	1,06	0,58	0,51	1,20	0,78
9	A: 4.2.66	3,12	0,51	0,37	0,33	1,00	0,86
	E: 19.2.66	1,77	1,11	1,04	0,66	0,99	0,52
10	A: 4.2.66	3,30	0,37	0,44	0,37	1,15	0,56
	E: 19.2.66	1,32	0,99	0,97	0,74	1,38	0,69

Tabelle 7b

Mit Anti-Walker behandelte Ratten (Kurzzeitige Behandlung)

a. Relative Prozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	53,71	7,42	6,84	5,16	17,37	9,50
		o ₊ 2,79	0,91	0,89	0,97	1,93	1,99
	E: M	28,86	17,04	14,10	9,19	20,01	10,80
		o ₊ 3,86	1,76	2,25	3,08	2,37	2,27
	t	29,58	20,04	11,17	7,86	6,14	3,71
	3t	88,74	60,12	33,51	23,58	18,42	11,13

b. Grammprozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	3,33	0,46	0,42	0,32	1,07	0,59
		o ₊ 0,17	0,06	0,06	0,06	0,13	0,10
	E: M	1,76	1,04	0,86	1,22	1,22	0,66
		o ₊ 0,24	0,11	0,13	0,14	0,14	0,14
	t	31,40	19,33	9,19	22,50	7,50	2,33
	3t	94,20	57,99	27,57	67,50	22,50	6,99

Tabelle 8a, 8b

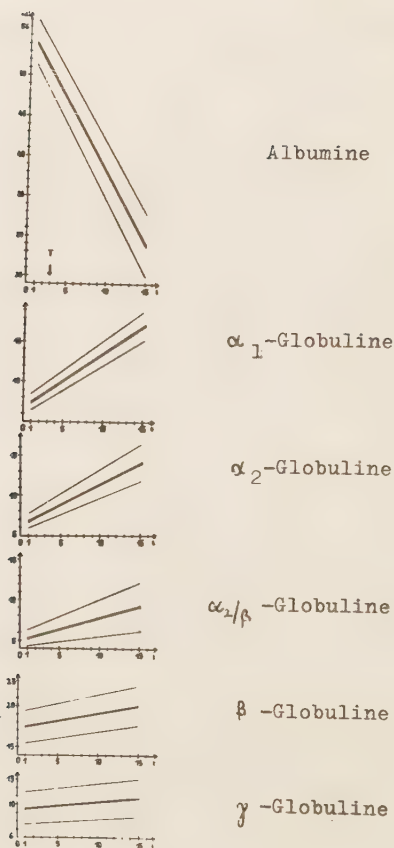


Abb.13: Kurvenverlauf der Papierelektrophoresebefunde der Seren kurzzeitig mit Antitumorserum vom Kaninchen behandelter tumortragender Ratten.

Papierelektrophoresen

Mit Anti-Walker behandelte Ratten (Langzeitige Behandlung)

a. Relative Prozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	49,69	13,75	7,81	6,56	15,94	6,25
	E: 24.1.66	34,70	16,04	9,33	10,45	17,16	12,31
2	A: 4.1.66	43,83	15,26	10,06	6,82	16,23	7,79
	E: 24.1.66	31,94	19,77	8,74	9,12	19,01	11,41
3	A: 4.1.66	49,63	11,31	9,49	6,93	16,06	6,57
	E: 25.1.66	31,30	15,22	11,30	12,17	20,00	10,00
4	A: 4.1.66	46,67	14,51	10,59	5,88	18,04	4,31
	E: 25.1.66	28,02	14,65	10,77	11,21	20,69	14,65
5	A: 4.1.66	43,60	16,61	11,07	6,57	15,92	6,23
	E: 25.1.66	32,06	14,50	12,21	8,40	23,28	9,54

b. Grammprozent

Tier-Nr.	Datum	Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	3,08	0,85	0,48	0,41	0,99	0,39
	E: 24.1.66	2,12	0,98	0,57	0,64	1,05	0,75
2	A: 4.1.66	2,72	0,95	0,61	0,42	1,01	0,48
	E: 24.1.66	1,93	1,20	0,53	0,56	1,16	0,70
3	A: 4.1.66	3,08	0,70	0,59	0,43	0,99	0,41
	E: 25.1.66	1,91	0,93	0,69	0,74	1,22	0,61
4	A: 4.1.66	2,89	0,90	0,66	0,36	1,12	0,27
	E: 25.1.66	1,71	0,89	0,66	0,68	1,26	0,89
5	A: 4.1.66	2,70	1,03	0,69	0,41	0,99	0,39
	E: 25.1.66	1,95	0,88	0,74	0,51	1,42	0,58

Tabelle 9a, 9b

Mit Anti-Walker behandelte Ratten (Langzeitige Behandlung)

a. Relative Prozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/ρ	β	γ
5	A: M	46,68	14,29	9,80	6,55	16,44	6,23
		2,97	1,97	1,26	0,70	0,90	2,04
	E: M	31,60	16,04	10,47	10,27	20,03	11,58
		2,39	2,17	1,42	1,41	2,25	1,24
	t	19,09	4,27	2,31	6,76	3,90	7,43
		57,27	12,81	6,93	20,28	11,70	22,29

b. Grammprozent

n		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/ρ	β	γ
5	A: M	2,89	0,89	0,61	0,41	1,02	0,39
		0,19	0,12	0,08	0,03	0,06	0,08
	E: M	1,92	0,98	0,64	0,63	1,22	0,71
		0,15	0,13	0,09	0,09	0,14	0,12
	t	18,65	4,50	0,94	5,79	1,63	3,27
		55,95	13,50	2,82	17,37	4,89	9,81

Tabelle 10a, 10b

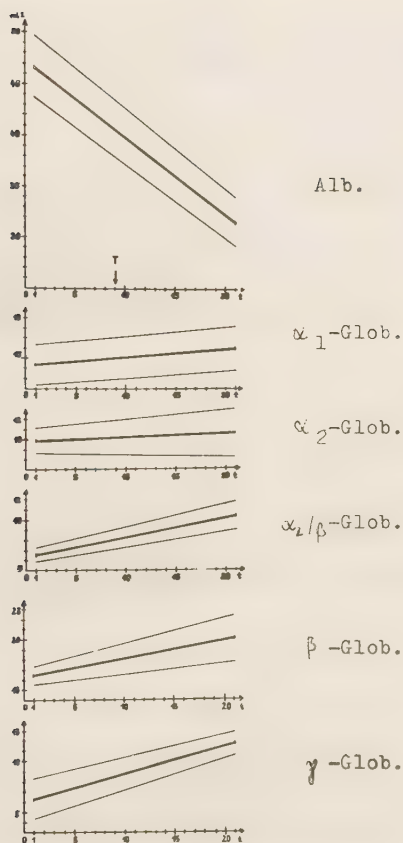


Abb.14: Kurvenverlauf der Papierelektrophorese-
befunde der Seren langfristig mit Anti-
tumorserum vom Kaninchen behandelter
tumortragender Ratten.

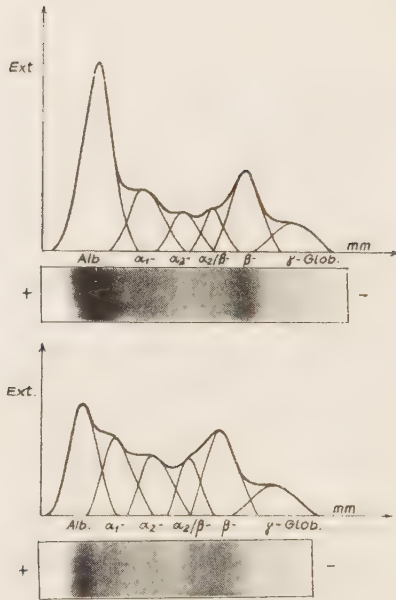


Abb.15: Papierelektrophoretische Trennung des Serums einer mit Antitumorserum vom Kaminchen behandelten tumortragenden Ratte
(Elektrophoresestreifen und Diagramm)
oben: Normales Rattenserum
unten: Serum einer Tumortragenden Ratte

bar ist, zwei nahe beieinander gelegene, jedoch durch geringe Wanderungsdifferenz unterscheidbare Komponenten, ein Bereich von α_1 -Globulin, eine weitere, schwächere Fraktion, die ebenfalls im α_1 -Bereich, aber kanalnäher gelegen ist, eine relativ breit auspräzipitierte Fraktion, die dem α_2 -Bereich zuzuordnen ist, weiterhin eine ebenfalls breit auspräzipitierte Komponente, die dem Siderophilin bzw. einem β_1 -Globulin gleichkommt sowie einzelne Subfraktionen mit etwa gleicher Wanderungsgeschwindigkeit ohne sichere Zuordnung zu einem bekannten Protein des menschlichen Serums. Schließlich eine relativ langgezogene Präzipitationslinie, die am ehesten einem γ -Globulin entsprechen dürfte, vergleichbar mit dem menschlichen Globulin der γ_G -Komponente; außerdem Subfraktionen in diesem Bereich, die wohl Immunglobulinen entsprechen (Abb.16a).

In der Reihe der lediglich mit Tumorzellen transplantierten Tiere fiel insgesamt eine Reduzierung der Präzipitationsintensität auf. Dies ließ sich verhältnismäßig deutlich auch für die γ -Globuline feststellen. Darüber hinaus zeigten sich in diesem Bereich Aufsplitterungsphänomene des γ -Präzipitats. (Abb.16b)

Unter den Präzipitatsmustern der mit Anti-DNS behandelten Tiere fiel zunächst eine Verstärkung der Präzipitate des α_1 -Bereiches und der γ -Subfraktionen auf, darüber hinaus ließ sich im γ -Globulinbereich eine Sporenbildung bzw. Aufsplitterung an dem γ -Präzipitat erkennen (Abb.16c).

Auch zeigte sich im Bereich der γ -Subfraktionen wenigstens

eine zusätzliche Komponente, die im Normalserum nicht aufgezeigt werden konnte.

In der Gruppe der mit spezifischen Antitumorserum behandelten und transplantierten Tiere konnten lediglich quantitative Änderungen im Ausmaß der Präzipitatbildung aufgezeigt werden, wobei vor allem eine breitere Präzipitation der γ -Globuline in Erscheinung trat. Auch die im schnellwandernden α -Bereich beschriebenen Fraktionen zeigten eine Anreicherung in ihrer Konzentration (Präzipitationsüberschußphänomen) und außerdem eine Änderung in ihrer Position, d.h. in ihrer Wanderungsgeschwindigkeit (Abb.16d).

Ergebnisse der Hämagglutination

In der Gruppe der Trägartiere konnte weder vor Transplantation noch am Ende des Versuches eine positive Reaktion der Rattenserum gegen den spezifischen Tumor aufgezeigt werden.

In der Gruppe der mit Anti-DNS behandelten und außerdem transplantierten Ratten war in der Versuchsanordnung der Rattenserum gegen den spezifischen Tumor in keinem Fall eine positive Reaktion nachzuweisen. Dagegen erwies sich die Hämagglutinationsreaktion der Rattenserum gegen Kaninchen Serum (als Trägerserum der Anti-DNS-Antikörper) als stark positiv (Titer 1:256).

Die gleichen Verhältnisse ergaben sich für die letzte Versuchsreihe und zwar sowohl für die Untergruppe der kurzfristig behandelten, als auch für die der langfristig mit Antitumorserum behandelten Ratten: Auch hier waren die

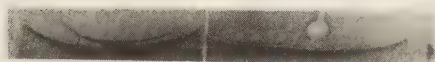
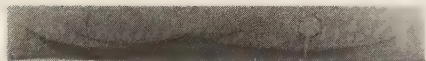


Abb.16: Immunelektrophoretische Analyse von

- a) Serum einer normalen Ratte
- b) Serum einer tumortragenden Ratte
- c) Serum einer mit Anti-DNS behandelten tumortragenden Ratte
- d) Serum einer mit Antitumorserum behandelten tumortragenden Ratte.

Agglutinationsreaktionen des Serums der Trägartiere gegen den Tumorextrakt sämtlich negativ, während die Reaktion der Rattenserum gegen das Kaninchenserum in allen Fällen mit Titerwerten zwischen 1:256 bis 1:1024 sich als stark positiv erwies (Tabelle 11).

Ergebnisse der Präzipitationsreaktionen im Agargel

Die Ergebnisse der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY entsprechen im wesentlichen den Befunden der Hämagglutinationsreaktion, d.h. es ergab sich bei Ansatz der Rattenserum gegen den transplantierten Tumorextrakt in keiner Gruppe und in keinem Einzelfall eine positive Präzipitatbildung. Dagegen konnte in all den Versuchsgruppen, in welchen Antisera appliziert wurden positive Präzipitationsreaktionen der Rattenserum gegen das immunkörpertragende Kaninchenserum aufgezeigt werden (Tabelle 11 und Abb.17).

Ergebnisse der fluoreszenzoptischen Untersuchungen

Die fluoreszenzoptischen Untersuchungen mit dem gepoolten Rattenserum der tumortragenden Tiere ergaben eine schwache Fluoreszenz des gesamten Gewebes ohne stärkere Intensitätsschwankungen.

Bei Verwendung des Antitumorserums vom Kaninchen zeigte sich eine deutliche Nucleoplasma-Fluoreszenz der infiltrierenden Tumorzellen. In Einzelfällen schien auch der Plasmasaum stärker aufzuleuchten.

Die mit dem Kaninchen-Kontrollserum versetzten Präparate zeigten keine oder nur schwache Fluoreszenz, hier vorwiegend des Kern-Plasma-Saumes. (Abb.18)

		Hämagglutination Gegen Tumor Gegen Kanin- chenserum	Präzipitation Gegen Tumor Gegen Kanin- chenserum
Trägartiere	Ausgangswert	ø	ø -
	Endwert	ø	ø -
Mit Anti-DNS be- handelte Ratten	Ausgangswert	ø	ø ø
	Endwert	ø	ø 1:256 +
Mit Anti-Tu be- handelte Ratten (kurzzeitig)	Ausgangswert	ø	ø ø
	Endwert	ø	ø 1:512 +
Mit Anti-Tu be- handelte Ratten (langzeitig)	Ausgangswert	ø	ø ø
	Endwert	ø	ø 1:1024 +

Tab.11: Ergebnisse der Hämagglutination nach BOYDEN
und der Präzipitationsreaktionen im Agargel.

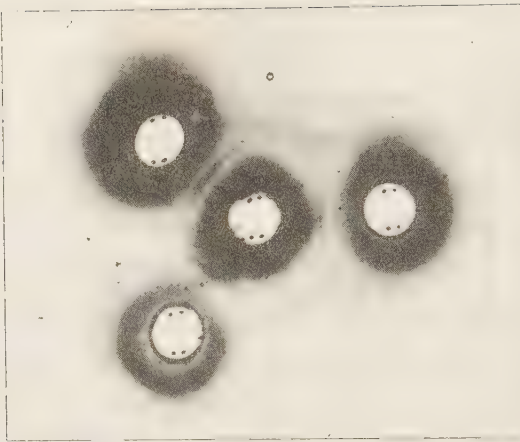


Abb.17: Zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel
nach OUCHTERLONY
Serum einer tumortragenden Ratte gegen Anti-
tumorserum vom Kaninchen

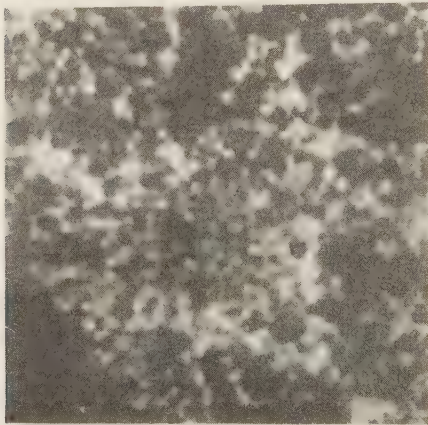


Abb.18: Ergebnisse der fluoreszenzoptischen Ver-
suche an Tumorschnitten unter Verwendung
eines fluoreszenzmarkierten Antitumorserums
vom Kaninchen.

Diskussion

Bei elektrophoretischer Analyse des Tumorextraktes konnten sowohl mit papierelektrophoretischer Technik, als auch mit der einfachen Agarelektrophorese insgesamt 9 Proteinkomponenten mit unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeit differenziert werden. Bei Vergleich mit einem menschlichen Serum fällt die Armut an Proteinen der feindispersen Phase, also des Albumin auf. Dagegen finden sich im α_2/β -Globulinbereich relativ stärkere Konzentrationen an Eiweißkörpern. Nicht wanderungsfähige, d.h. an der Auftragungsstelle liege- gebliebene Proteine weisen auf bindegewebige Anteile des Extraktes hin. Die hier erhobenen Befunde stimmen im wesentlichen mit den Angaben der Literatur (60) als auch mit eigenen früheren Erfahrungen überein (25). Insgesamt unterscheidet sich somit das Elektrophorese- muster des Tumors sowohl vom Serumproteinphorogramm eines Menschen (als Vergleichssystem) als auch von dem einer Ratte. Nach umfangreichen eigenen Analysen (3) ist das Rattenserum durch fünf (allenfalls sechs) (57) Proteinfractionen ausgezeichnet, wobei eine Albumin- fraktion wie auch das β -Globulin an Konzentration be- sonders in Erscheinung treten (vergleiche auch unten). Diese Feststellung ist insofern von Belang, als es al- lein auf Grund dieser Unterschiede im Protein- bzw. An- tigenmuster möglich sein könnte, daß Tumorproteine als heterologe Eiweißkörper eine Immunisierung induzieren.

Andrerseits ist erfahrungsgemäß die relative Konstellation eines Proteingemisches für deren immunologische Eigenschaften nicht ausschlaggebend, so daß für die antigene bzw. immunisierende Wirkung der transplantierten und tolerierten Tumorproteine bei vorliegender Versuchsanordnung erst die Frage nach zirkulierenden (bzw. sessilen) Antikörpern für die immunologischen Eigenschaften entscheidend ist. Die Tatsache, daß mit Bezug auf die Veränderungen in den Serumeiweißkörpern bei tumortragenden Ratten Relationsverschiebungen mit starker Verminderung des Albumins und Anreicherung insbesondere der α -Globuline nachweisbar wurden, entspricht den bekannten Befunden aus der tierexperimentellen und aus der Humanpathologie (40, 51, 54, 66). Die Ursachen dieser Verschiebung sind bis heute nicht völlig geklärt, möglicherweise spielen für die Bestimmung dieses Elektrophoresetyps entzündliche bzw. nekrotisierende Prozesse entweder im Bereich des Tumors selbst oder im Sinne einer Sekundärinfektion eine entscheidende Rolle, so daß hier gewissermaßen der von der akuten Entzündung her bekannte Dysproteinämietyp entsteht. Daß es sich wahrscheinlich nicht um ein spezifisches Tumorkriterium handelt, wird u.a. dadurch unterstrichen, daß es Tumorkranke gibt mit ausgedehntem Prozeß, ja sogar Metastasen, die überhaupt keine Verschiebungen in ihren Serumeiweißkörpern aufweisen (51, 54). Die bei einzelnen Tieren gefundene Hypo- bzw. Agammaglobulinämie ist von der Humanpathologie her nicht geläufig. Diese Phänomene

können allenfalls dahin gedeutet werden, daß infolge der konsumierenden Erkrankung durch den Tumor selbst und durch den Eiweißkatabolismus die γ -Globulin- bzw. Antikörperproduktion gehemmt wurde.

In der Gruppe der mit Anti-DNS-Serum vom Kaninchen vorbehandelten und transplantierten Tiere war die Dysproteinämie durch einen Albuminabfall und eine Anreicherung vor allem der β - und γ -Globuline ausgezeichnet. Hieraus darf abgeleitet werden, daß offenbar eine Sensibilisierung und entsprechende Abwehrreaktion durch das Anti-DNS-Serum vom Kaninchen erfolgt ist. Dieser Konstellationstyp ist seit langem als Ausdruck abgelaufener Immunisierungsprozesse oder chronisch mesenchymaler Reaktionen bekannt (16,33,51, 52,58,64). Diese Erfahrungen aus der Humanpathologie lassen sich nach früheren eigenen Untersuchungen auch auf Immunisierungsprozesse bei der Ratte übertragen (26).

Es überrascht nur insoferne als die Immunisierungsfolgen gegen das Kaninchenserum offensichtlich gegenüber den Verschiebungen nach einfacher Tumortransplantation dominieren.

Bei Vergleich der Ergebnisse aus der Gruppe der mit Anti-Walker-Serum vom Kaninchen behandelten und außerdem mit Tumor transplantierten Tiere fällt auf, daß die kurzzeitig mit Antiserum behandelten Tiere eine wesentlich stärkere Hypalbuminämie und unter den vermehrten Globulinen insbesondere eine Anreicherung der α -Globuline zeigen, während die langfristig mit Anti-Walker-Serum behandelten

Tiere eine stärkere relative Vermehrung der β - und γ -Globuline erkennen lassen. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich damit zu erklären, daß bei den kurzzeitig mit Anti-Walker-Serum behandelten Ratten der Sensibilisierungseffekt bis zum Ende der Beobachtungszeit weitgehend abgeklungen ist und somit das Bild der Tumordysproteinämie wieder vorherrscht, während bei der Dauerapplikation von Fremdeiweiß (Trägerserum der Anti-Walker-Immunkörper!) die Mesenchymaktivierung anhielt.

Der Immunoелеktrophoresebefund entspricht den Angaben der einschlägigen Literatur (3,57). Die Phänomene wie sie bei der Gruppe der mit Anti-DNS behandelten Tiere wahrgenommen wurden, können als Folge einer stattgehabten Sensibilisierung durch das Trägerserum bzw. als Resultierende einer tiefgreifenden Proteinstoffwechselstörung angenommen werden, die sowohl auf die Sensibilisierung, als auch auf das Tumorstadium zurückgeführt werden kann. Ebenso sind wohl die Veränderungen der beiden anderen Gruppen zu deuten. Diese Serumbefunde bedürfen jedoch einer weiteren Klärung durch spezielle Untersuchungen unter entsprechenden Versuchsbedingungen. Da es sich hier mehr oder weniger um einen erhobenen Nebenbefund handelt, sind diese Phänomene weiteren Untersuchungen nicht unterzogen worden.

Die fluoreszenzoptischen Ergebnisse bestätigen einerseits die Tatsache, daß die Seren der tumortragenden Tiere offenbar keine tumorspezifischen bzw. gewebsspezifischen Anti-

körper enthalten. Andererseits stimmen die Befunde überein mit der durch Agglutination und Präzipitation nachgewiesenen spezifischen Tumorantikörperproduktion im sensibilisierten Kaninchen.

Die Tatsache, daß in den vorliegenden Versuchsreihen in keinem der Serien tumortragender Ratten zirkulierende Antikörper nachgewiesen wurden, spricht dafür, daß der von den Ratten tolerierte Tumor keine sensibilisierende Wirkung auf den Tierorganismus ausgeübt hat. Dieser in sämtlichen Versuchsreihen erhobene Befund steht z.T. in Widerspruch zu den Angaben in der Literatur bei vergleichbarer Versuchsanordnung (2,5,15,17,18,19,36,37,45,59,61,62,67), er steht aber andererseits in Übereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren (6,11,35,38,45,50,62,65).

Die Ergebnisse der Überlebenszeit, hier vor allem die Feststellung der relativ längeren Lebenszeit bei den Tieren, die mit Antiseren behandelt wurden und außerdem die Beobachtung, daß in diesen Gruppen die Tumorentwicklung entweder langsamer erfolgte oder, wie dies für zwei Fälle (s.S.14/15) zutrifft, sogar verhindert wurde, kann unseres Erachtens nicht als Ausdruck einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion betrachtet, sondern muß wohl als Folge der akut einsetzenden Sensibilisierung etwa als " Ablenkungsreaktion " gedeutet werden.

Die Ergebnisse zeigen insgesamt, wie dies auch in einer gleichlaufenden Versuchsreihe mit anderem Tumor (56) beobachtet wurde, daß ungeachtet der Proteinkomposition von Tumoreiweißkörpern ein von einem Organismus tolerierter Tumor immunologisch indifferent bleibt, d.h. vom Trägerorganismus als autologes Gewebe empfunden wird und somit auch keine sensibilisierende Wirkung ausübt. Dies wird insbesondere durch die Versuchsreihen mit antinucleären Antikörpern bzw. spezifischem Antitumorextrakt unterstrichen, da offenbar das Wachstum einer einmal implantierten und tolerierten Tumorformation nicht nennenswert gehemmt wird. Wahrscheinlich bestehen prinzipielle Unterschiede zwischen der Wirkung zirkulierender Antikörper, wie sie im passiv applizierten Tumorantisera der Ratte einverleibt wurden, und der Wirkung sessiler Antikörper. Diese immunologisch indifferente Rolle zirkulierender Antikörper ist aus der Humanpathologie längst bekannt, man denke nur an das Antistreptolysin und andere Streptokokken- oder Bakterienantikörper, die lediglich die Rolle eines Indikators spielen.

Zusammenfassung

Es waren insgesamt 25 Albinoratten im Versuch. Diese wurden dabei im Rahmen verschiedener Versuchsanordnungen in drei Gruppen zu je 5 bzw. 15 Tieren aufgeteilt.

Die papierelektrophoretischen Untersuchungen zeigten bei allen drei Gruppen tiefgreifende Dysproteinämie mit Hypalbuminämie.

Bei der Immunoelktrophorese fand sich eine weitgehende Störung im Proteinstoffwechsel, die sowohl auf einen Sensibilisierungsprozeß als auch auf das Tumorstadium zurückgeführt werden könnte.

Die Hämagglutinations- und Präzipitationsreaktionen ergaben bei Ansatz der Rattenserum gegen den transplantierten Tumor keinen Hinweis auf humorale Antikörper. Lediglich in den Versuchsgruppen in welchen immunkörpertragendes Kaninchenserum appliziert wurde, konnten positive Hämagglutinations- bzw. Präzipitationsreaktionen der Rattenserum gegen das Kaninchenserum aufgezeigt werden.

Auch fluoreszenzserologisch ließen sich keine zirkulierenden Antikörper nachweisen.

Literaturverzeichnis

- 1) Aizawa, M. and C.M. Southam:
Serum antibodies following homotransplantation of human cancer cells. Fourth tissue homotransplantation conference.
Ann. N.Y. Acad. Sc. 87, 293 (1960)
- 2) Bade, W.F., I.L. Spar, R.L. Goodland and D.E. Wolfe:
In vivo and in vitro studies of labeled antibodies against rat kidney and Walker carcinoma.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 89, 564 (1955)
- 3) Berg, G., K.H. Kimbel und F. Scheiffarth:
Zur Schwankungsbreite der Serumeiweißfraktionen normaler Versuchsratten.
Naturwiss. 42, 51 (1955)
- 4) Bickis, I.J., J.H. Quastel and S.I. Vas:
Effekt of Ehrlich ascites antisera on the biochemical activities of Ehrlich ascites carcinoma cells in vitro.
Cancer Research 19, 602 (1959)
- 5) Bittner, J.J., H.H. Hirsch, J.D. Ross and R. Barielson:
Host-induced changes in the mouse mammary tumor agent from transplanted tumors as determined by neutralizations studies
Cancer Research 19, 918 (1959)
- 6) Bittner, J.J., and D.T. Imagawa:
Effect of the source of the mouse mammary tumor agent upon neutralization of the agent with antisera.
Cancer Research 15, 464 (1955)
- 7) Björklund, B.:
Antigenicity of malignant and normal human tissues by gel diffusion techniques.
Intern. Arch. Allerg. Appl. Immunol. 8, 179 (1956)

- 8) Björklund, B., and V. Björklund:
Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cyto - immunological technique. Presence of an insoluble, heat - labile tumor antigen.
Intern. Arch. Allerg. Appl. Immunol. 10, 153 (1957)
- 9) Björklund, B., G. Lundblad and V. Björklund:
Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cyto - immunological technique. II Nature of tumor antigen.
Intern. Arch. Allerg. Appl. Immunol. 12, 241 (1958)
- 10) Boyden, S.V.:
The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.
J. Exp. Med. 93, 107 (1951)
- 11) Brown, E.R., and J. Bittner:
Fluorescent antibody reaktion against the mouse mammary tumor agent.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 106, 303 (1961)
- 12) Burrows, D.:
Schultz - Dale test for detection of specific antigen in sera of patients with carcinoma.
Brit. M. J. 1, 368 (1958)
- 13) Coons, A.H., H.J. Creech and R.N. Jones:
Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 47, 200 (1941)

- 14) Coons, A.H., and M. Kaplan:
Localisation of antigen in tissue cells.
J. exp. Med. 91, 1 (1950)
- 15) Csaba, G. und I. Tőro:
Ein neues Verfahren zur Krebsdiagnose.
Z. Krebsforsch. 62, 481 (1957/59)
- 16) Doerr, R.:
a) "Die Immunitätsforschung"
Bd. I "Antikörper" Springer-Verlag, Wien 1947
b) "Die Immunitätsforschung"
Bd. III "Antigene" Springer-Verlag, Wien 1948
c) "Allergie und Anaphylaxie"
Handbuch der pathol. Mikroorg., 3. Auflage, Bd. I, 759 (1928)
- 17) Feo, F., P. de Gregorio and L. Gariel:
Action of antibodies on metabolism of
normal and tumor cells in vitro.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 109, 515 (1962)
- 18) Fink, M.A., P. Smith and M.V. Rothlauf:
Antibody production in BALB/C mice following
injection of lyophilized tumor S 621 in
Freund's adjuvant.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 90, 590 (1955)
- 19) Finney, J.W., E.H. Byers and R.H. Wilson:
Studies in tumor autoimmunity.
Cancer Research 20, 351 (1960)
- 20) Fischer, R., und F. Wulen:
Die Dysproteinämie im Experiment. Vergleichende Untersuchungen beim Meerschweinchen, Kaninchen und der Ratte.
Z. Exp. Med. 130, 538 (1956)

- 21) Friedewald, W.F., and J.G. Kidel:
Induced antibodies that react in vitro
with sedimentable constituents of normal
and neoplastic tissue cells - presence of
the antibodies in the blood of rabbits
carrying various transplanted cancers.
J. Exp. Med. 82, 21 (1945)
- 22) Froberg, H. und E. Matthies:
Untersuchungen zur Erzeugung von Tumor-
resistenz gegenüber Impfgeschwülsten.
Z. Krebsforsch. 61, 31 (1956/57)
- 23) Goldstein, G., J. Slizys and M.R. Chase:
Studies on fluorescent antibody staining.
I. Nonspezifische fluorescence with fluorescein-
coupled sheep antirabbit globulins.
J. exp. Med. 144, 89 (1961)
- 24) Götz, H.:
Das Verhalten der Serumweißkörper unter
Sensibilisierung sowie in Abhängigkeit von
Nebennierenrinden-System.
Diss. Erlangen 1955
- 25) Götz, H. und H. Baenkler:
Zur Charakterisierung von Tumor-Proteinen.
Im Druck.
- 26) Götz, H., G. Berg und F. Scheiffarth:
Methodische Grundlagen der Immunoelktro-
phorese.
Z.Immun.-forsch. 114, 72 (1957)
- 27) Goldner, H., H.E. Bogden and P.M. Aptekmann:
Immunity against a transplantable ascites
tumor of spontaneous origin in an inbred
rat strain.
J. of Immunol. 82, 520 (1959)

- 28) Gorer, P.A., and N. Kaliss:
The effect of isoantibodies in vivo on
three different transplantable neoplasm
in mice.
Cancer Research 19, 824 (1959)
- 29) Grabar, P. und C.A. Williams:
Méthode permettant l'étude conjuguée
des propriétés électrophorétiques et
immunochimiques d'un mélange des protéines;
application au serum sanguin. Biochim.
Biophys. Acta 10, 193 (1956)
- 30) Graham, J.B., and R.M. Graham:
Antibodies elicited by cancer in patients.
Cancer Research 8, 409 (1955)
- 31) Grassmann, W., K. Hannig und M. Knedel:
Dtsch. med. Wschr. 333 (1951)
- 32) Gross, W.O., und E. Spechtmeyer:
Der Agglutinationstest zur Antigenbe-
stimmung von Zellstämmen.
Z. Krebsforsch. 65, 565 (1963)
- 33) Havens, W.P. jr., J.M. Shaffer and C.J. Hopke jr.:
J. Immunol. 68, 389 (1952)
- 34) Henning, N.:
Laboratoriumsdiagnostik.
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin (1960)
- 35) Kaliss, N.:
Immunological enhancement of tumor
homografts in mice. A review.
Cancer Research 18, 992 (1958)
- 36) Korngold, L.:
The distribution of human tissue antigens
in five human tumors grown in rats or
hamsters.
Cancer Research 16, 956 (1956)

- 37) Korngold, L., and G.v.Leeuwen:
Immunological and elektrophoretic studies
of human tissue and tumor antigens.
Cancer Research 17, 775 (1957)
- 38) Korngold, L., and R. Lipari:
Tissue antigens of human tumors grown in
cats, hamsters and eggs.
Cancer Research 15, 159 (1955)
- 39) Lewi, E., and A.M. Schechtman:
The preparation in immunologically tolerant
rabbits of antisera against the Ehrlich
ascites tumor.
Cancer Research 23, 1566 (1963)
- 40) Locher, R.:
Das elektrophoretische Serumeiweißbild
der Krebskrankheit.
Diss. Bern, 1951
- 41) Makari, J.G.:
Detection of antigens in sera of patients
with neoplastic disease by Schultz-Dale test.
Brit. M. J. 2, 358 (1958)
- 42) Mann, L.S., and W.H. Welker:
A specific precipitin antiserum for
carcinoma protein.
Am. J. Cancer 39, 360 (1940)
- 43) Mayersbach, H.v.:
Immunhistologische Methoden in der Histochemie.
In: W. Graumann u.K. Neumann, Handbuch der
Histochemie, S. 598
Stuttgart: Gustav Fischer 1958
- 44) McGredie, J.A., E.R. Brown and W.H. Cole:
Immunologic treatment of tumors.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 100, 31 (1959)

45) Milgrom, F.:

A short review of immunological
investigations.
Cancer Research 21, 862 (1961)

46) Ouchterlony, O.:

Antigen-antibody reactions in gels.
IV types of reactions in coordinated
systems of diffusion.
Acta Path. et Mikrobiol. Scandinav. 32,
231 (1953)

47) Pikovski, M., and M. Schlesinger:

Natural agglutinins in rat sera against
cells of mouse tumors differing in their
transplantability to pretreated rats.
Cancer Research 19, 227 (1959)

48) Reif, A.E., and H.J. Norris:

A system for quantitative determination
of cytotoxic activity of antisera to
ascites tumor cells.
Cancer Research 20, 1235 (1960)

49) Révész, L.:

Effect of lethally damaged tumor cells
upon the development of admixed viable cells.
J.Nat. Cancer Inst. 20, 1159 (1958)

50) Ritter, S.:

Über eine immunologische Untersuchung zur
Diagnostik der Krebskrankheiten.
Z. Krebsforsch. 65, 101 (1962)

51) Riva, G.:

Das Serumeiweißbild
Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart (1957)

52) Scheer van der, J., R.W.G. Wykoff, and F.H. Clarke:

- a) J. Immunol. (Am.) 39, 65 (1940)
- b) J. Immunol. (Am.) 40, 173 (1941)

- 53) Scheidegger, J.J.:
Une micromethode de l'immuno-électro-
phorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
- 54) Scheiffarth, F., G. Berg und H. Götz:
Papiererelektrophorese in Klinik und Praxis.
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin (1962)
- 55) Scheiffarth, F., und W. Frenger:
Die Verwendbarkeit der passiven oder in-
direkten Hämagglutinationsreaktion nach
Boyden beim Nachweis von Antikörpern.
Blut - Z. ges. Blutforsch. 2, 102-107 (1956)
- 56) Scheiffarth, F., H. Götz und K. Günther:
Serologische und fluoreszenzoptische
Untersuchungen an tumortragenden Ratten
(Transplantation von Yoshida-Sarkomen).
Im Druck.
- 57) Scheiffarth, F., H. Götz und O. Kneller:
Weitere statistische Untersuchungen der
Serumeiweißverhältnisse unbehandelter
Albinoratten.
Naturwiss. 44, 639 (1957)
- 58) Schmidt, H.:
a) Zbl. Bakt. 15, 142 (1948/49)
b) Fortschr. d. Serol. 1951, 5. Lieferg.
- 59) Schrek, R., and F.W. Preston:
Cytotoxicity of a homologous immune
serum to a transplantable rat tumor by
the method of unstained cell counts.
Cancer Research 17, 102 (1957)
- 60) Schwenke, K.D.:
Vergleichende Untersuchungen löslicher
Organproteine aus Tumor- und Normalgeweben

mit Hilfe der freien Elektrophorese.
Z. Krebsforsch. 68, 112 (1966)

61) Snell, G.D.:

Incompatibility reactions to tumor homo-
transplants with particular reference to
the role of the tumor. A review.
Cancer Research 17, 2 (1957)

62) Southam, Ch.M.:

Relationship of immunology to cancer.
A review.
Cancer Research 20, 271 (1960)

63) Takeda, K.:

Studies on the immunological phenomena
of Yoshida Sarcoma.
Gann. 43, 449 (1952)

64) Tiselius, A.:

- a) J. exp. Med. (Am.) 65, 641 (1937)
- b) Trans. Faraday Soc. 33, 524 (1937)
- c) J. Biochem. 31, 1464 (1937)

65) Witebsky, E., N. Rose and S. Shulman:

Studies of normal and malignant tissue
antigens.
Cancer Research 16, 831 (1956)

66) Wuhrmann, F., und Ch. Wunderly:

Die Bluteiweißkörper des Menschen.
Benno Schwabe u. Co. Verlag Basel 1952

67) Yagi, Y., and D. Pressmann:

Immunologic differences between Murphy-
Sturm lymphosarcoma and normal rat lymphnodes.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 106, 164 (1961)

68) Zak, B., and K.M. Sun:

Technique for separation of protein by
means of agar gel electrophoresis.
Am. J. Clin. Path. 29, 694 (1958)

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof.Dr. F. SCHEIFFARTH für die Überlassung des Themas sowie die freundliche Übernahme des Referats meinen herzlichen Dank aussprechen.

Gleichzeitig danke ich Frl. Dr. H. GÖTZ und Herrn Dr. H. WARNATZ für die mir zuteil gewordenen Hinweise bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Lebenslauf

Am 23. Januar 1942 wurde ich als Tochter des Dr.med. Helmut Klobe und seiner Ehefrau Friedel, geb. Dirscherl, in Nürnberg geboren.

1944 ist mein Vater bei Sewastopol gefallen.

Von 1948 bis 1952 besuchte ich die Volksschule; im Herbst 1952 trat ich in das Städtische Mädchenrealgymnasium in Fürth ein.

Dem Abitur im Juli 1961 folgte im November 1961 die Immatrikulation an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen.

Im Sommersemester 1962 bestand ich dort das Vorphysikum und im Wintersemester 1963/64 das Physikum.

Mit Ausnahme des Wintersemesters 1964/65, in welchem ich an der Universität Innsbruck eingeschrieben war, verbrachte ich meine Studienzeit in Erlangen, wo ich z.Zt. im 11. Semester stehe.

Fürth, den 10. Januar 1967

Ursula Klobe

Offsetdruck - Fotodruck

Josef Hogl

8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz,) Tel. 22990

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hegl, 852 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
